ÉTUDE PRÉLIMINAIRE SUR LE CERCOSPORIDIUM PUNCTUM (LACROIX) DEIGHTON

Agent de la «Cercosporidiose» du Fenouil (Foeniculum vulgare Mill.)

par Martine BOUGEARD et I. VEGH*

RÉSUMÉ. – Le *Cercosporidium punctum* (Lacroix) Deighton occasionne des dégâts importants sur les fenouils doux (*Foeniculum vulgare* spp. *capillaceum* var. *dulce* (Mill.) Thell.) et amer (*Foeniculum vulgare* spp. *capillaceum* var. *vulgare* (Mill.) Thell.) cultivés pour la production d'anéthole, essence indispensable à la fabrication des boissons anisées.

La description du champignon et des symptômes a été précisée ainsi que le pouvoir pathogène de ce parasite. Quelques aspects de la biologie du parasite ont été étudiés, et en particulier ceux du déterminisme de la germination des conidies ainsi que de la viabilité des stromas. Différentes méthodes d'analyse des semences ont été expérimentées afin de pouvoir connaître le pourcentage d'infection du *Cercosporidium punctum* sur les semences et l'importance de la transmission du parasite sur les fruits.

I. - INTRODUCTION

Dans tous les secteurs de son économie, la France cherche à acquérir son indépendance maximale vis-à-vis de ses fournisseurs étrangers. Or, s'il est un domaine où nous dépendons directement des producteurs étrangers, c'est bien celui des produits anisés. En effet, la saveur caractéristique de ceux-ci est due à l'anéthole que l'on ne distillait industriellement jusqu'en 1972 qu'à partir de la Badiane. Celle-ci est le fruit du Badanier (*Illicium verum*) de la famille des Magnoliacées, qui ne pousse que sous les climats chauds et humides d'Extrême-Orient.

* Station de Pathologie Végétale, Centre National de Recherches Agronomiques, INRA, Route de Saint-Cyr, 78000 Versailles.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE (*Cryptog. mycol.*) TOME 1 (1980).

Devant les hausses du prix de l'essence de Badiane, et voulant éviter l'utilisation de l'anéthole de synthèse, les producteurs de boissons anisées recherchèrent d'autres plantes susceptibles de leur fournir ce constituant essentiel.

Il apparut rapidement que le Fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.) pouvait être une solution intéressante puisque, d'une part il a un bon rendement en anéthole, et d'autre part sa présence à l'état sauvage en France pouvait laisser espérer une bonne mise en exploitation. Actuellement, en France, deux sortes de Fenouil sont utilisées pour la production d'anéthole: Fenouil doux (*Foeniculum vulgare* spp. *capillaceum* var. *dulce* (Mill. Thell.) et Fenouil amer (*Foeniculum vulgare* spp. *capillaceum* var. *vulgare* (Mill.) Thell.). Nos observations et nos essais ont été effectués sur ces deux variétés.

Dès 1974, 500 hectares de fenouils doux et amers furent mis en culture dans les régions méridionales. Ce premier essai encourageant conduisit, les années suivantes, à l'augmentation des surfaces. Mais aux difficultés de production, de récolte et de distillation, s'ajoutèrent bientôt des problèmes d'ordre pathologique liés à des attaques parasitaires qui limitèrent l'extension de la culture. Parmi les agents phytopathogènes en cause, le *Cercosporidium punctum* (Lacroix) Deighton semble tenir une place importante. Notons ici que dans notre pays, les fenouils doux et amers peuvent être attaqués par d'autres champignons tels que le *Plasmopara nivea* (Ung.) Schroet., *Leveillula taurica* (Lév.) Arnaud et, surtout, par un *Phomopsis* (DU MANOIR et VEGH, sous presse).

La présente étude a pour but de mieux connaître le *Cercosporidium punctum*, ses caractéristiques morphologiques et biologiques.

II. - MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. MATÉRIEL

1. - Matériel végétal

Toutes les études ont été réalisées à partir des différents organes (tiges, feuilles, semences) du Fenouil doux et du Fenouil amer cultivés en serre ou en plein champ.

2. - Matériel fongique

N'ayant pu être obtenu en culture pure, le champignon a été étudié sur plante.

B. MÉTHODES

1. - Essais de mise en culture

a) A partir de spores

Étalement. – Cinquante semences de Fenouil amer infestées sont immergées dans 5 ml d'eau permutée stérile, puis agitées mécaniquement pendant 10

minutes environ. La suspension de spores obtenue est diluée selon la méthode classique des dilutions successives et ensemencée sur malt à 1 p. cent gélosé.

Micromanipulation. – Des spores de C. *punctum* sont mises à germer sur eau gélosée. On les transfère isolément à l'aide d'un micromanipulateur, au bout de 48 heures sur malt à 1 p. cent gélosé additionné ou non de streptomycine.

b) A partir de fragments de tissus

Des fragments de tissus, désinfectés ou non, porteurs de stromas ont été déposés, sur milieu gélosé, sur boîte de Pétri. Les conditions de cette tentative d'isolement sont résumées dans le tableau I.

Malt à 1 p. 100	Bichlorure de mercure à 1 p. 1000 30 sec.	sans désinfection préalable	Hypochlorite de sodium à 1° 10 min.
Malt à 1 p. 100 + Streptomycine	Bichlorure de mercure à 1 p. 1000 30 sec.	sans désinfection préalable	Hypochlorite de sodium à 1° 10 min.

Tableau I. – Conditions de désinfection et nature du milieu utilisé pour l'isolement du *Cercosporidium punctum*.

2. - *Étude de la germination des conidies*

La germination est suivie soit en boîte de Pétri, sur eau gélosée à 2 p. cent, soit en chambre humide, sur lame plate. Pour l'observation, les spores et les filaments germinatifs ont été colorés au bleu trypan. Nous considérons qu'une spore a germé quand la longueur du filament germinatif est au moins égale à la largeur de la conidie. Les spores ont été obtenues par grattage et lavage de feuilles et de semences porteuses de conidies à l'eau permutée stérile. Pour l'étude de la germination en présence ou en l'absence de lumière, certaines boîtes ont été recouvertes de papier opaque, alors que les autres sont exposées à un éclairement de 2000 lux, et ceci à une température de 23°C environ. Nous avons noté le pourcentage de germination sur des ensembles de 300 spores. Nous avons mesuré la longueur du filament germinatif sur au moins 50 spores.

3. - *Technique d'inoculation*

Des inoculations sont effectuées sur des plantes au stade 4-5 feuilles cultivées en serre. Le nombre de conidies, obtenues par agitation des organes végétaux bien fructifiés, est ramené à 50 spores par mm^3. Cette suspension est soit pulvérisée, soit déposée à l'état de gouttes sur les feuilles de Fenouil. Les plantes sont alors recouvertes de sacs plastiques; elles resteront ainsi cinq jours en atmosphère saturée. Des bassinages d'eau seront effectués tous les jours, puis l'on notera l'évolution de la maladie.

4. - Désinfection

On procède à une désinfection superficielle. Les semences sont immergées dans des solutions à différentes concentrations d'hypochlorite de sodium ou de bichlorure de mercure. Pour cela elles sont enfermées dans une cage de nylon dont on force l'immersion. En effet, les semences étant plus légères que l'eau et présentant des reliefs à leur surface, elles ont tendance à rester à la surface des solutions aqueuses. Cinq rinçages sont ensuite effectués après la désinfection à l'hypochlorite de sodium et dix après celle au bichlorure de mercure.

Les semences sont disposées à raison de dix par boîte de Pétri de 10 cm de diamètre, soit sur malt à 1 p. cent soit sur papier buvard humecté par 4 ml d'eau stérile. Les semences ainsi déposées sont placées à la température de 22°C. L'analyse de l'état sanitaire se fait au bout de 3 et 7 jours.

III. - RÉSULTATS

A. L'AGENT PATHOGENE

1. - Morphologie (in vivo)

a) Stromas

Une coupe dans les tissus nécrosés montre des amas mycéliens plus ou moins abondants, souvent confluents, composés d'articles de couleur olivâtre pâle (fig. 1). Les dimensions de ces stromas varient entre 40µm et 120µm (moyenne calculée sur 100 stromas : 84,5µm).

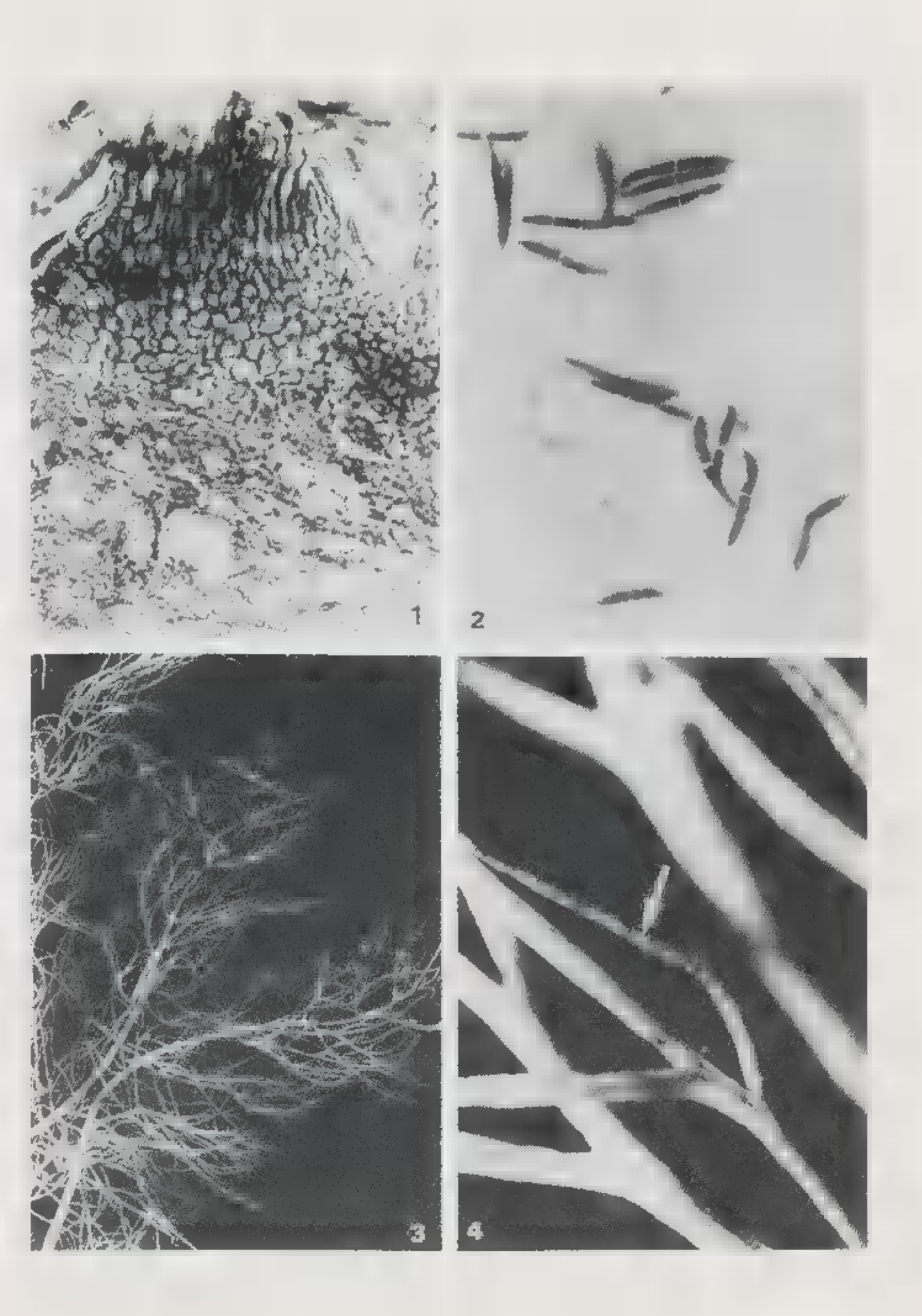
b) Conidiophores

A la surface de ces stromas brun foncé se différencient des conidiophores groupés de façon dense (fig. 1). Ceux-ci sont de couleur brun olivâtre, légèrement plus pâles vers l'apex. Ces conidiophores présentent des cicatrices conidiennes assez proéminentes, en forme d'épaule, qui leur donnent un aspect sinueux et coudé. Ils peuvent atteindre 70µm de long et leur largeur varie de 3,5 à 7,5 µm.

c) Conidies

Les conidies émises sont hyalines, lisses, cylindriques ou sub-cylindriques, généralement divisées par une cloison transversale (fig. 2). Sur 200 mesures effectuées 1 p. cent des conidies sont simples, 94 p. cent possèdent 1 cloison, 3,5 p. cent en possèdent 2 et 1.5 p. cent en ont 3. Leurs dimensions varient

Pl. I. – 1 : Coupe d'un stroma de *Cercosporidium punctum* sur semence. 2 : Conidies de *Cercosporidium punctum*. 3 : Symptômes induits par *Cercosporidium punctum* sur feuilles. 4 : Dessèchement complet d'une feuille (avec formation de stromas) provoqué par *Cercosporidium punctum*.


1
2
3
4

de 22 à 54µm de long par 3,5 à 6,7µm de large, avec une moyenne de 37,4 x 4,8µm. Nous avons mesuré la longueur des spores en fonction de leur nombre de cloisons :

- conidies à 3 cloisons : 49,1µm
- conidies à 2 cloisons : 46,6µm
- conidies à 1 cloison : 36,8µm
- conidies sans cloison : 36,3µm

Ces spores présentent souvent un aspect quelque peu étranglé au niveau de la cloison et on observe à l'extrémité basale un hile marquant l'ancienne zone d'attache avec le conidiophore. Cette cicatrice est légèrement proéminente et mesure de 1 à 2µm de large : à cet endroit de la conidie, la paroi semble plus épaisse. Nous n'avons jamais observé de conidies présentant cette formation aux deux extrémités ou naissant en courte chaînette telles que SIBILIA (1932) en a décrit. Lorsque les conidies ont une cloison, celle-ci n'est en général pas située au milieu de la conidie mais légèrement décalée vers la partie basale.

2. - *Taxinomie et nomenclature*

Le genre *Cercosporidium* fait partie de l'ordre des Hyphales et de la famille des Dématiacées, malgré le stroma bien développé.

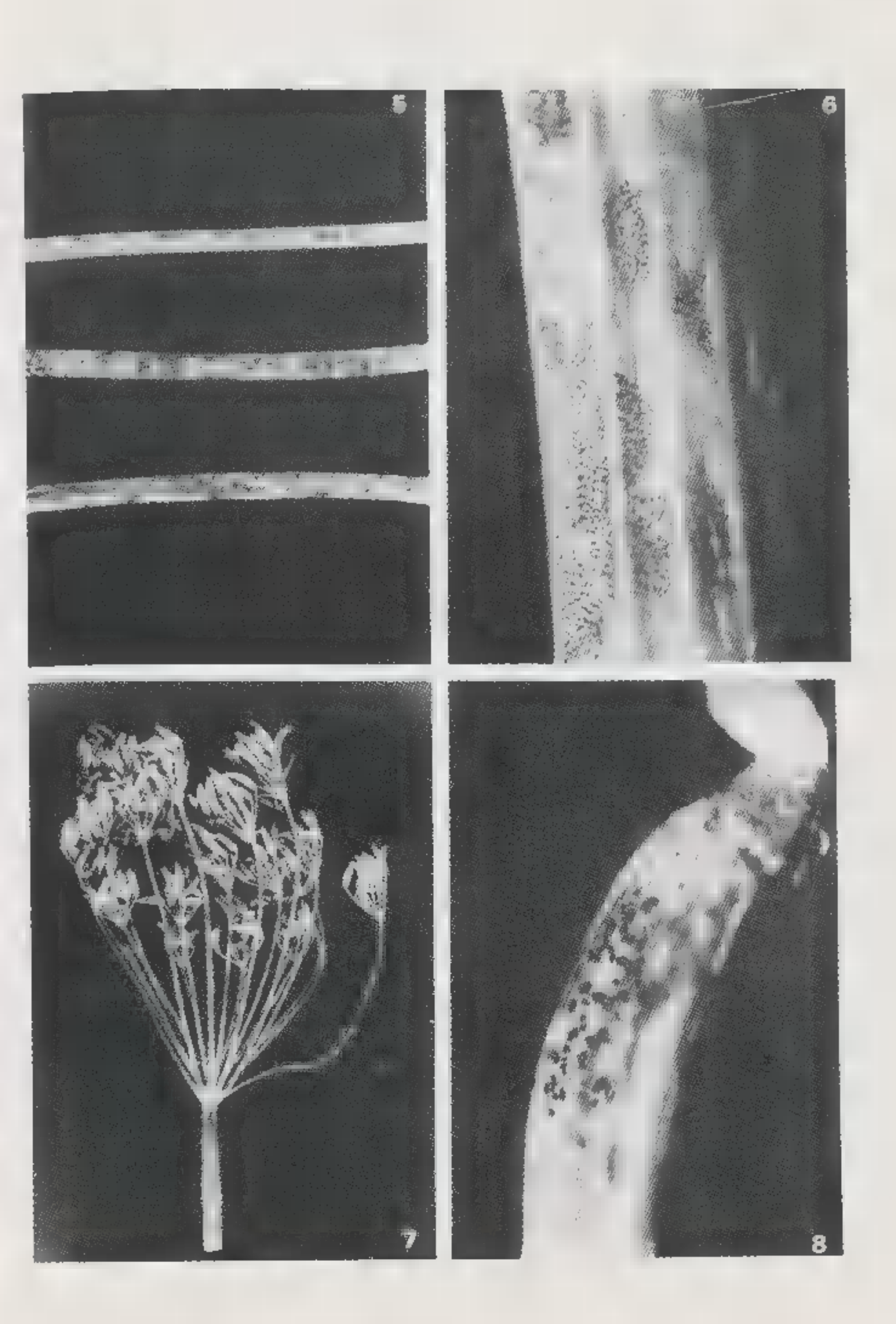
Le *C. punctum* fut décrit sous des noms très différents : DEIGHTON (1967) propose plus de dix synonymes. En raison de la similitude des symptômes et des autres caractères morphologiques, nous considérons le champignon étudié comme appartenant à l'espèce *Cercosporidium punctum*, proposée par DEIGHTON (loc. cit.). Un stade pycnidien est signalé sur *Anethum* : il s'agit du *Phoma anethi* (Pers. et Fr.) Sacc. Nous avons observé en 1974 un *Phoma* sp. sur Fenouil amer. DEIGHTON (loc. cit.) signale que *Mycosphaerella anethi* Petrak constitue probablement le stade ascosporé du *Cercosporidium punctum*.

3. - *Répartition géographique et hôtes*

Le *C. punctum* est largement répandu dans le monde et en particulier dans les régions à climat chaud, comme l'Inde et le Pakistan où il occasionne de sévères dégâts. En outre, il a été signalé sous différents noms sur Fenouil en U.R.S.S., en Roumanie, aux Canaries, en France (sur Fenouil de Florence), en Iran, en Italie, en Espagne et en Argentine. En France, le champignon est connu maintenant sur les trois variétés de Fenouil : Fenouil de Florence, Fenouil doux et Fenouil amer.

Le *C. punctum* attaque 3 Ombellifères : *Foeniculum vulgare, Anethum graveolens* et *Petroselinum crispum*. Sur ces végétaux, il a été mentionné en

Pl. II. — Fig. 5 : Symptômes de *Cercosporidium punctum* sur tige. Fig. 6 : Détail de fructification de *Cercosporidium punctum* sur tige. Fig. 7 : Symptômes de *Cercosporidium punctum* sur une ombelle. Fig. 8 : Stromas de *Cercosporidium punctum* sur semence.


5
6
7
8

Egypte, Éthiopie, France, Inde, Iran, Israël, Italie, Jamaïque, Kenya, Lybie, Pakistan et U.S.A.

B. LA MALADIE

1. - Symptomatologie

Les premiers symptômes de la maladie apparaissent au début de la floraison, c'est-à-dire vers le 15 juillet pour les fenouils de première année, et de façon beaucoup plus précoce, (fin avril-début mai) pour les fenouils de seconde année.

a) Sur les limbes

Sur les segments terminaux des feuilles de la base, on observe des taches nécrotiques très petites et brunes. Le parasite attaque tout le tour de la feuille en provoquant un étranglement et un brunissement (fig. 3 et 4). Apparaissent ensuite à ce niveau de petites ponctuations noires à partir desquelles se forment des conidiophores de couleur olivâtre en bouquet dense. Les taches mesurent de 1 à 3 mm environ; elles prendront une teinte gris cendré quand se formeront les conidies. Les feuilles du bas jaunissent et se flétrissent, puis la maladie gagne peu à peu les parties hautes de la plante.

b) Sur les gaines et les tiges

Sur les gaines ou les tiges, l'altération se présente sous forme de taches brunes, de forme elliptique ou rectangulaire, légèrement incrustées dans le tissu (fig. 5 et 6). Ces taches peuvent atteindre plus de 10 mm de long; elles sont limitées par les côtes de la tige et des gaines.

c) Sur l'inflorescence

Au terme de l'évolution de la maladie, les rayons d'ombelles et les fruits sont attaqués (fig. 7 et 8). Les fruits sont peu déformés si l'attaque a lieu alors qu'ils sont déjà formés. Par contre, si l'attaque est précoce, ceux-ci sont très déformés; la formation de la cuticule et le développement des canaux secréteurs sont arrêtés (SINGH, 1974).

Sur un lot de semences infectées à 40 p. cent, la maladie provoque une diminution de poids de l'ordre de 30 p. cent (tableau II).

Poids de 100 semences saines en g		Poids de 100 semences infectées à 40 p. 100 en g.	
Fenouil doux	Fenouil amer	Fenouil doux	Fenouil amer
0,728	1,136	0,467	0,895

Tableau II. - Comparaison des poids (en g) de 100 semences de Fenouil doux et de Fenouil amer attaquées par le *Cercosporidium punctum*.

2. - Dénomination

Dans la littérature, on relève différents noms pour désigner cette affection

du Fenouil. Les auteurs ayant décrit le champignon comme appartenant au genre *Cercospora* parlent de la Cercosporiose du Fenouil, et cette dénomination a été reprise par la suite par d'autres auteurs, mais ne peut s'appliquer à un champignon du genre *Cercosporidium*. SIBILIA (loc. cit.) décrit la maladie sous le nom de l'Anthracnose du Fenouil. Mais ce terme vague s'applique en général aux genres *Ascochyta*, *Colletotrichum*, *Gloeosporium*, *Marssonina*, *Phyllosticta*, *Sphaceloma*, et à leurs formes parfaites. MESSIAEN et LAFON (1970) parlent de «Tavelure» pour décrire la maladie causée par *Fusicladium depressum* mais comme dans le cas précédent, cette dénomination ne peut convenir. En anglais le terme généralement utilisé est celui de «blight» (SINGH, 1974; PRASAD et al. (1960) qui signifie ici dépérissement ou flétrissement, et qui semble trop imprécis. C'est pourquoi nous proposons le nom de «Cercosporidiose» pour désigner cette affection.

C. ISOLEMENT DU CHAMPIGNON

Quelle que soit la méthode utilisée (voir «Méthodes»), nous n'avons pu obtenir le résultat escompté. Dans la littérature, plusieurs auteurs se sont trouvés confrontés à ce problème. PRASAD et al. (1960) en particulier ont tenté par micromanipulation de transférer des spores sur différents milieux minéraux et organiques, sans succès. SIBILIA (loc. cit.) s'est heurté lui aussi à cette difficulté, provenant, d'après lui, de la présence de saprophytes au niveau des conidiophores. Il a, malgré tout, obtenu en culture des stromas générateurs de conidiophores et de conidies, sans qu'il y ait production de mycélium végétatif «normal».

D. ÉTUDE DE LA GERMINATION DES CONIDIES

1. -Mode de germination

Une fois les conidies ensemencées, on constate une augmentation du volume, et ceci en particulier pour la cellule basale. L'ensemble de la conidie prend alors un aspect quelque peu étranglé au niveau de la (ou des) cloisons(s), puis elle émet un ou plusieurs filaments germinatifs qui peuvent se cloisonner (fig. 9). Il ne se forme jamais plus d'un filament germinatif par loge, et ainsi le nombre de filaments émis par la conidie varie avec le nombre de cellules de celle-ci. Les différentes loges des conidies sont capables de germer et il y a peu de variations quant à leur mode de germination. La germination de la loge apicale s'effectue en règle générale de façon terminale, mais quelquefois latérale. Pour ce qui est de la loge basale, l'émission du tube germinatif ne se fait jamais à l'extrémité basale (là où se trouve le hile) mais s'effectue de façon subterminale ou latérale.

Sur 300 spores bicellulaires germées, on a observé que 63,5 p. cent germaient au niveau de la loge apicale, 25,8 p. cent au niveau de la loge basale, et 10,7 p. cent au niveau des deux loges.

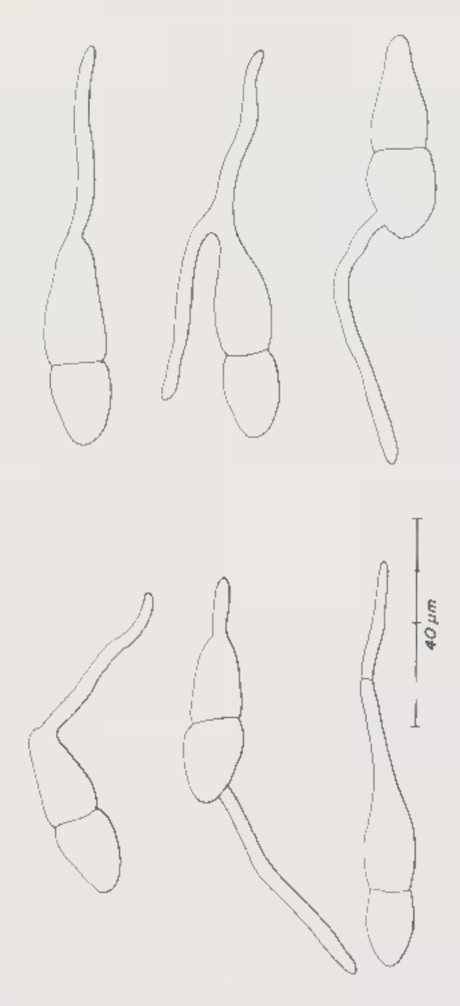


Fig. 9. — Germination de conidies de *Cercosporidium punctum* après 48 h d'incubation sur eau gélosée, à 25°C et à l'obscurité.

A 25°C, les filaments germinatifs sont hyalins, longs de 8,5 à 62,5µm, avec une longueur moyenne de 28,3µm (fig. 9). Les premières cloisons apparaissent environ au bout de 40 heures après le début de la mise en germination.

2. - Influence du substrat

La germination est suivie sur eau gélosée, à 1 p. cent, en boîte de Pétri, et sur eau permutée, stérile, déposée sur lame plane et lame à concavité. Nous avons relevé le pourcentage de germination au bout de 4 heures, 8 heures, 24 heures et 48 heures (Tableau III). Les plus forts pourcentages sont obtenus sur eau gélosée et cela au bout de 48 heures. Dans la suite de cette étude, cette

dernière méthode sera le plus fréquemment utilisée.

Substrat \ Temps en heures	4	8	24	48
Eeau permutée sur lame plane	0	0,6	3,3	4,6
Eau permutée sur lame à concavité	0,3	1,0	1,6	2,3
Eau gélosée	0,6	22,3	60,3	74,6

Tableau III. – Influence du substrat sur le pourcentage de germination des conidies de *Cercosporidium punctum* en fonction du temps (Germination à 23°C en lumière alternée : 16h de lumière, 8h d'obscurité).

3. - Influence de la lumière

Des conidies de *C. punctum* ensemencées sur eau gélosée sont mises à germer soit à l'obscurité continue, soit en lumière alternée (16h de lumière, 8 h d'obscurité). Nous n'avons pas observé de variation significative entre les lots placés dans des conditions différentes, et au bout de 48h, les taux de germination étaient d'environ 75 p. cent.

4. - Influence de la température

a) Sur le taux de germination

Les essais sont réalisés sur eau gélosée et à l'obscurité pour une gamme de température allant de 5°C à 40°C. La figure 10 montre que les spores germent de 5°C à 35°C. La température optimale se situe vers 25°C, et l'on constate que la germination est très bonne aux températures comprises entre 15°C et 30°C. Parallèlement, nous avons cherché à savoir au bout de combien de temps 50 p. cent des spores avaient germé, et cela à différentes températures. Un graphique (fig. 11) présente les résultats de cette expérience, et l'on peut observer que c'est à la température optimale de 25°C que le temps de germination de la moitié de la population des conidies est le plus court (24 heures).

b) Sur la longueur des filaments germinatifs

L'influence de la température sur la longueur des filaments germinatifs est précisée par l'observation de conidies mises en germination depuis 48h à l'obscurité, et ceci pour une grande gamme de températures. La figure 12 reproduit les résultats de cette expérience. Nous voyons donc que c'est aux alentours de 25°C, température optimale pour la germination, que la longueur de filament germinatif est maximale. De plus, nous avons remarqué qu'aux températures extrêmes, les filaments germinatifs présentaient un contour plus sinueux et étaient nettement plus trapus qu'aux températures optimales (fig. 13).

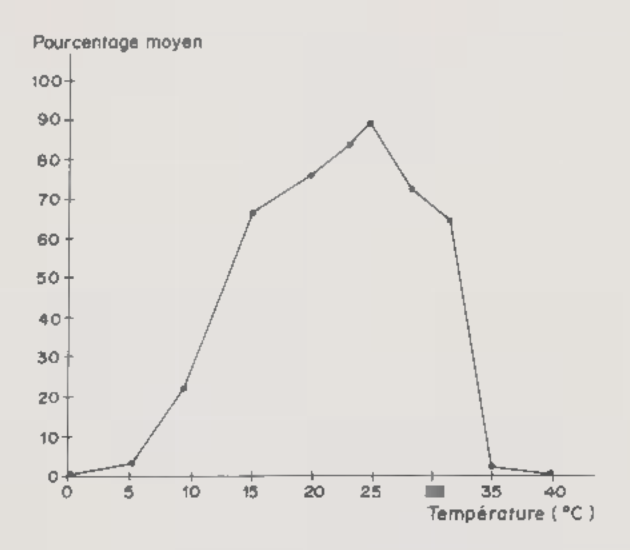


Fig. 10. — Influence de la température sur le pourcentage de germination de *Cercosporidium punctum* après 48h d'incubation sur eau gélosée.

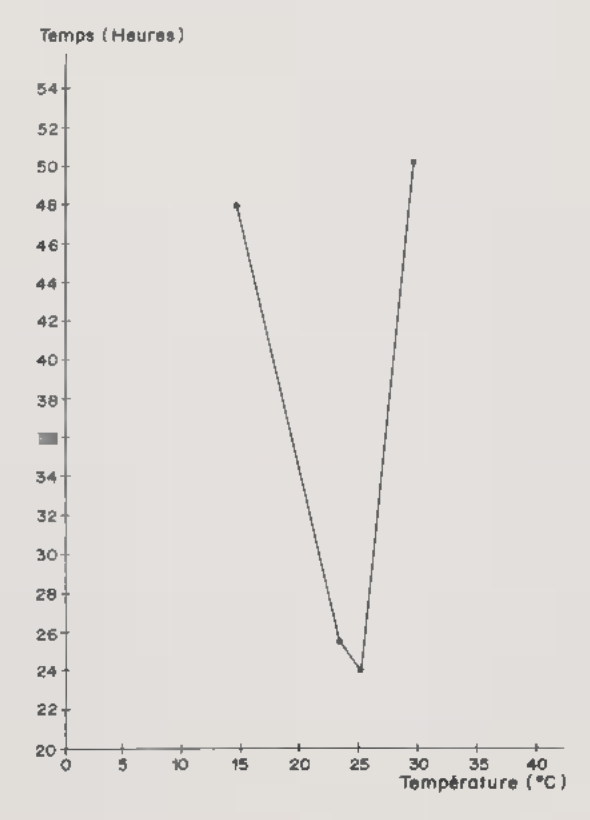


Fig. 11. — Variation, en fonction de la température, du temps nécessaire à la germination de 50 p. 100 des conidies de *Cercosporidium punctum* sur [redacted] gélosée.

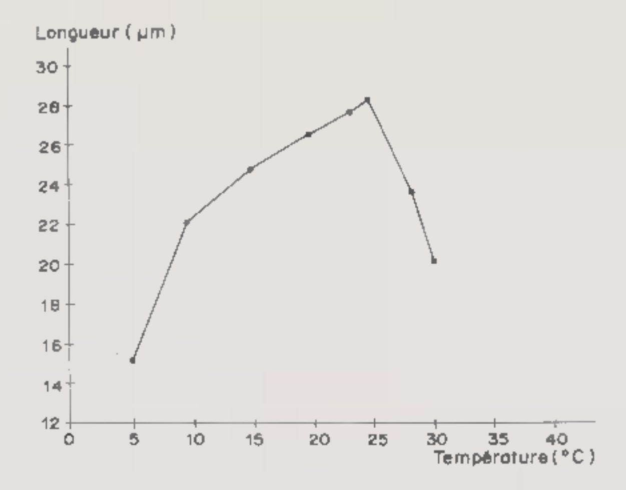


Fig. 12. — Variation de la longueur des filaments germinatifs de *Cercosporidium punctum* en fonction de la température après 48h d'incubation sur eau gélosée.

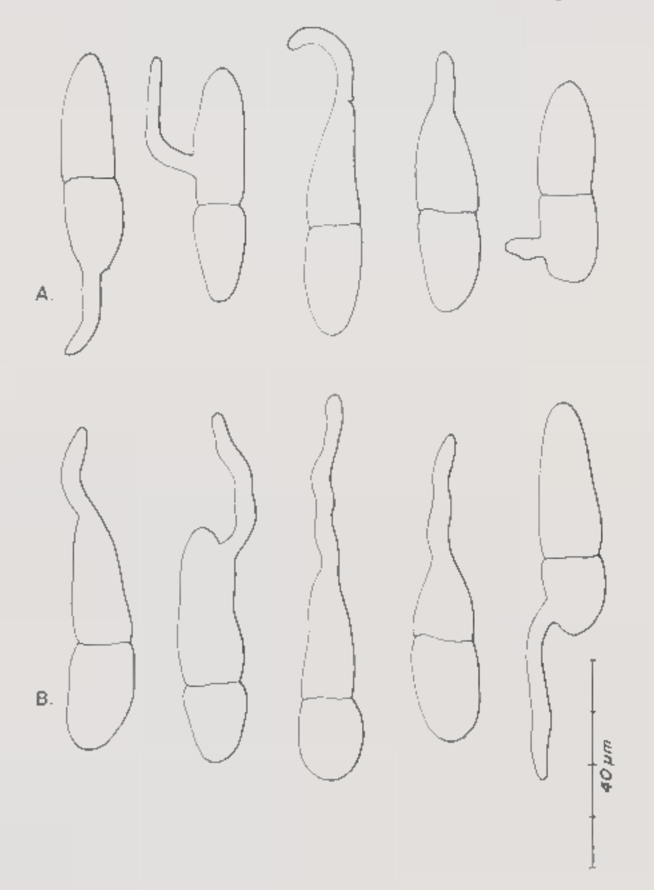


Fig. 13. — Germination des conidies de *Cercosporidium punctum* sur eau gélosée après 48h d'incubation et à l'obscurité. - A.: à 10°C; B.: à 30°C.

E. ÉTUDE DE LA LONGÉVITÉ

1. - Longévité des conidies

Nous avons cherché à savoir si des conidies âgées de quelques mois à 4 ans étaient capables de germer. Des lots de semences datant de 1974 à 1977 sont étudiés au préalable quant à leur pourcentage d'infection, par une analyse de semences.

Par lavage des semences dans de l'eau permutée stérile, nous obtenons des suspensions plus ou moins riches en conidies. Ces suspensions servent à ensemencer des boîtes de Pétri contenant de l'eau gélosée. Ces boîtes sont placées à 25°C. Les observations sont faites 48 heures après la mise en germination. Nous n'avons jamais obtenu de conidies germées, que celles-ci soient âgées de 4 ans ou de 10 mois.

2. - Viabilité des stromas

Les semences de Fenouil des lots âgés de 1 à 4 ans sont lavées par agitation dans 5 bains successifs d'eau stérile afin d'éliminer toutes les conidies présentes à la surface des fruits. Ceux-ci sont ensuite mis en chambre humide, à raison de 200 par lot. Des observations à la loupe binoculaire sont effectuées au bout de 4 et 7 jours.

De nouvelles conidies se sont formées sur les stromas pour les lots de semences de 1977, mais aussi sur ceux de 1974. Ces conidies présentent un taux de germination du même ordre. Nous avons donc mis en évidence que des semences contaminées depuis 4 ans sont -ncore capables de sporuler.

F. INOCULATION

Des pulvérisations de spores ont été effectuées sur des fenouils doux et des fenouils amers au stade 4 à 5 feuilles; parallèlement, nous avons déposé sur d'autres lots de Fenouil, des gouttes de la suspension de spores de *C. punctum*. Dans les deux cas, nous avons pu reproduire la «Cercosporidiose» sur Fenouil doux et sur Fenouil amer. Au bout d'un mois, en effet, sont apparues sur les feuilles des taches porteuses de stromas qui ont sporulé abondamment.

G. ANALYSE DES SEMENCES

1. - Recherche d'une méthode d'analyse

Nous avons cherché à connaître la méthode d'analyse (choix du substrat et du désinfectant) permettant la meilleure observation du *C. punctum* sur les semences.

Deux désinfectants sont essayés à diverses concentrations et pendant des temps plus ou moins importants. L'hypochlorite de sodium à 1° chlorométrique français pendant 5 et 10 minutes, à 2° chlorométrique français pendant 10 minutes et à 10° chlorométrique français pendant 3 minutes. Le bichlorure de mercure

à 1 p. 1000 pendant 30 secondes, 1 et 2 minutes. Les résultats de cet essai sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV. — Pourcentage d'infection établi sur l'observation de 200 semences en fonction de la désinfection. - A: Désinfection à l'hypochlorite de sodium; B:Désinfection au bichlorure de mercure à 1 p. 1000.

A		Témoin	1° 5mn	1° 10mn	2° 10mn	10° 3mn
Fenouil doux	sur malt gélosé	4,5	16,5	14,0	4,5	15,5
	sur papier filtre	11,0	22,5	27,5	23,0	17,0
Fenouil amer	sur malt gélosé	13,5	24,5	19,5	15,0	18,0
	sur papier filtre	20,0	25,5	38,0	24,0	21,5

B		Témoin	30 sec	1 mn	2 mn
Fenouil doux	sur malt gélosé	12,0	20,0	21,5	23,0
	sur papier filtre	15,0	32,0	31,5	35,5
Fenouil amer	sur malt gélosé	16,0	25,5	26,0	27,0
	sur papier filtre	17,0	36,0	41,5	38,0

Il ressort de cette expérimentation que :

- Pour des échantillons d'un même lot, et dans différentes conditions de désinfection, on observe mieux sur papier filtre que sur milieu gélosé la présence du parasite.

- Le pourcentage d'infection du lot de Fenouil amer est toujours plus élevé que celui du lot de Fenouil doux, quelles que soient les conditions de désinfection et la méthode d'analyse.

Nous pouvons dire que le lot de Fenouil amer est infecté à plus de 40 p. 100 et que celui de Fenouil doux l'est à plus de 30 p. 100, sachant que l'on considère qu'une semence est infectée lorsqu'elle est porteuse d'au moins un stroma.

- Les concentrations à retenir ainsi que leurs temps de désinfection sont les suivants : Hypochlorite de sodium à 1° chlorométrique français pendant 10 minutes et bichlorure de mercure à 1 p. 1000 pendant 1 et 2 minutes.

2. - Analyse des différents lots

Sept lots de Fenouil ont été analysés par la méthode définie par l'étude précédente.

Deux cent semences par lot sont désinfectées par de l'hypochlorite de sodium pendant 10 minutes, puis rincées successivement 5 fois dans l'eau stérile. Les semences sont réparties à raison de 10 sur les disques de papier-filtre placés dans des boîtes de Pétri à 20°C. Les observations sont faites au bout de trois jours. Les résultats sont consignés dans le tableau V.

Tableau V. — Pourcentage d'infection de différents lots de Fenouil.

■ Lots supposés infectés :

Fenouil amer de la vallée du Rhône (1974) (1)	26,5
Fenouil amer de la vallée du Rhône (1974) (2)	11,0
Fenouil amer de la région parisienne (1974)	25,0
Fenouil amer de la Marne (1974)	38,0
Fenouil doux de l'Eure (1976)	27,5

■ Lots supposés sains :

Fenouil amer des Charentes-maritimes (1977)	8,0
Fenouil doux de l'Eure (1976)	0

Il se dégage de cette analyse l'importance des stromas comme organes de conservation. Ceux-ci sont en effet toujours présents au bout de 4 ans et, comme nous l'avons vu plus haut, capables de produire des conidies.

IV. - CONCLUSIONS

Au cours de cette étude sur le *Cercosporidium punctum*, nous nous sommes particulièrement attachés à définir la morphologie, la symptomatologie et certains aspects de la biologie de ce parasite. Celui-ci, susceptible d'attaquer tous les organes aériens des fenouils doux et amer, est largement répandu en France dans ses zones de culture.

Cette étude nous a également permis de préciser les différents aspects de la biologie du parasite.

La germination des conidies

Les conidies sont capables de germer de 5°C à 35°C, l'optimum de température se situant à 25°C. Cependant, le pourcentage de germination est encore très élevé entre 15 et 30°C, ce qui pourrait expliquer en partie l'existence du parasite dans les différentes régions. La lumière n'est pas indispensable à la germination des spores. Les conidies âgées de plus de 10 mois ne sont plus viables.

La conservation du champignon

Nous avons mis en évidence que des stromas âgés de plus de 4 ans sont encore capables de sporuler. Le champignon peut donc de cette façon se conserver durant une longue période. Il peut ainsi être disséminé par les semences d'où la nécessité d'utiliser des lots sains ou désinfectés avec un produit antifongique actif.

Pouvoir pathogène

Des conidies pulvérisées sur Fenouil ont reproduit les symptômes de la «Cercosporidiose», ce qui est une preuve du parasitisme du *C. punctum*. La durée d'incubation dans les conditions expérimentales est d'environ trente jours. Toutefois, ce laps de temps varie très vraisemblablement avec les conditions climatiques.

Cette approche de la biologie du champignon permet d'envisager de lutter contre le parasite par le contrôle des semences et par une lutte chimique.

Analyse des semences

Parmi les méthodes d'analyse expérimentées, l'utilisation de disques de papier-filtre humectés, avec désinfection préalable des semences, permet le plus facilement de mettre en évidence la présence de *C. punctum* sur semences. Cette désinfection est effectuée à l'aide d'hypochlorite de sodium à 1° chlorométrique français pendant 10 minutes ou à l'aide de bichlorure de mercure à 1 p. 1000 pendant 1 ou 2 minutes. Cette technique d'analyse donne la possibilité à l'utilisateur d'employer les lots les plus sains pour ses futures cultures.

BIBLIOGRAPHIE

DEIGHTON F.C., 1967 — Studies on *Cercospora* and allied genera. *Mycol. Pap.* 112: 80 p.

DU MANOIR Jacinthe, VEGH I., 1980 — *Phomopsis foeniculi* spec. nov. sur Fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Phytopath. Z.* (sous presse).

MESSIAEN C.M., LAFON R., 1970 — Les maladies des plantes maraîchères, éd. I.N.R.A., Paris, p. 231.

PRASAD N., MATHUR R.L., AGNIHOTRI J.P., 1961 — Blight of Fennel in Rājasthān : 1. Morphology and identity of the pathogen. *Curr. Sci.* 30, 2: 65-66.

SIBILIA R.D., 1974 — Una parasita del Finocchion. *Boll. R. Staz. Pat. Veg.* 12: 210-235.

SINGH R.D., 1974 — Histopathology of Fennel infected by *Ramularia foeniculi*. *Ind. J. Mycol. Plant Pathol.* 4 (2): 166-170.